この添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

承認番号 21500AMY00152000

L0182 Rev.3

※※2011年 2月改訂（第3版）

※2009年12月改訂（第2版）

核マトリックス蛋白22キット

ELISA法 尿中NMP22濃度測定用

UNMP22 テストキット

■全般的な注意

（1）本キットは、体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないでください。

（2）診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。

（3）添付文書以外の使用方法については保証を致しません。

（4）標準品及びコントロール（別売）には、ヒト由来成分が含まれており、感染の危険があるので、感染性のあるものとして取り扱ってください。

（5）使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

■形状・構造等（キットの構成）

	構成試薬	容　量	備　考
①	抗NMP22 抗体プレート	96穴プレート×1枚	抗NMP22マウスモノクローナル抗体を吸着結合させたプレート
②	標準品 （凍結乾燥品）	②-1 2mL用×1瓶 ②-2 〃 ②-3 〃 ②-4 〃 ②-5 〃	NMP22抗原含有 注： 標準品中のNMP22濃度（単位：U/mL）はラベルに表示
③	希釈液凍乾品 （凍結乾燥品）	10mL用×1瓶	尿検体希釈用
④	ジゴキシゲニン 結合抗体液	20mL×1瓶	ジゴキシゲニン結合抗NMP22マウスモノクローナル抗体含有
⑤	酵素標識抗体液	20mL×1瓶	ペルオキシダーゼ標識抗ジゴキシゲニンヒツジポリクローナル抗体含有
⑥	発色剤	30mg×4錠	1錠当たり オルトフェニレンジアミン二塩酸塩10mg含有
⑦	発色用緩衝液	40mL×1瓶	0.03% 過酸化水素含有
⑧	濃縮洗浄液	30mL×1瓶	洗浄用

■使用目的

尿中の核マトリックスプロテイン22（NMP22）の測定

■測定原理

本キットは、モノクローナル抗体を用いたサンドイッチ法に基づくELISA法により、尿中のNMP22濃度を測定するものです。下図にその測定原理を示します。96穴プレートに吸着結合された抗NMP22マウスモノクローナル抗体（302-18）およびジゴキシゲニン結合抗NMP22マウスモノクローナル抗体（302-22）は、尿中に含まれるNMP22と抗原抗体反応を起こし免疫複合体を形成します。この免疫複合体とペルオキシダーゼ標識抗ジゴキシゲニンヒツジポリクローナル抗体が抗原抗体反応を起こし、ペルオキシダーゼがプレートに結合します。NMP22量はプレートに結合したペルオキダーゼ量に対応しますので、ペルオキシダーゼの酵素活性を過酸化水素とオルトフェニレンジアミン二塩酸塩を用いて求めることにより、尿中のNMP22量を測定することができます。

図1 UNMP22 テストキットの測定原理

■操作上の注意

1.測定試料の性質、採取法

（1）採尿した随時尿は、採尿後24時間以内に尿安定化剤入りの採尿管に移し混和し、2～8℃で保存してください。

（2）測定直前に遠心分離により不純物を除去してください。これを本キットの尿検体としてください。

(3) 測定後、尿検体を保存する場合は、必ず遠心分離をおこない、その上清を凍結（－20℃以下）又は2～8℃で保存してください。なお、この場合、尿検体は凍結保存では採尿後1ヶ月、2～8℃保存では採尿後2週間まで保存できます。

(4) 尿の採取にあたり、ガラス製品および金属製品は使用しないでください。

(5) カテーテル等が留置されている患者の尿は用いないでください。

(6) 自然排出尿を用い、カテーテルによる採取は行わないでください。

(7) 膀胱鏡検査施行後、またはカテーテル施行後、5日以内の尿は用いないでください。

2. 妨害物質、妨害薬剤

(1) 溶血のため上澄みが褐色に着色している尿検体では、正誤差を生じますので検査に使用しないでください。

(2) 妨害物質の影響については、ビリルビンは20mg/dLまで、グルコースは2g/dLまで、アルブミンは1g/dLまで、クレアチニンは2g/dLまで、アスコルビン酸は200mg/dLまで影響は少なく測定可能です。赤血球1×10^6cell/mLまでの溶血は影響が少なく測定可能です。

3. 正しい結果を得るために清浄な器具を使用してください。
4. 精度に影響を与えますので分注は正確に行い、尿検体または標準液相互間の混じり合いによる誤差を避けるために、各尿検体または標準液ごとに新しいチップを使用してください。
5. 発色液は金属に触れると発色に誤差を与えますので、発色液の調製や添加には金属製の器具を用いないでください。
6. 測定に際しては、プレート1枚の測定ごとに標準液を2重測定して検量線を作成してください。
7. 尿検体の濃度が測定範囲を越える場合は、キット付属の希釈液で尿検体を希釈し再測定してください。
8. 尿検体の希釈にはキット付属の希釈液以外のものは使用しないでください。
9. プレートの洗浄にはキット付属の洗浄液以外のものは使用しないでください。

■用法・用量（操作方法）

(1) 使用する機器および器具

・ピペット（200μL用、1000μL用）
・メスシリンダー（50mL用、1000mL用）
・プレート洗浄器
・恒温槽（22℃）
・分光光度計（492nm）

(2) 試薬の調製方法

①洗浄液
室温に戻した濃縮洗浄液30mLを精製水3000mLに加え混和して、洗浄液とします。

②標準液1～5
室温に戻した標準品1～5に精製水を2mL加え溶解し、それぞれを標準液1～5とします。

③希釈液
室温に戻した希釈液凍乾品に精製水を10mL加え溶解し、希釈液とします。

④発色液
室温に戻した発色剤2粒に発色用緩衝液20mLを加え溶解し、発色液とします。
発色反応直前に調製してください。

⑤その他の試薬は室温に戻した後、そのまま用いてください。

⑥その他に発色停止液として2mol/L硫酸を用意してください。濃硫酸50mLを精製水400mLに加え混和し、発色停止液とします。

(3) 測定方法

①抗NMP22抗体プレート（以下プレート）を、洗浄液で前洗浄（400μL×3回）します。
②プレートの各穴に、標準液または、尿検体を200μLずつ分注します。
③22℃で2時間、一次反応を行います。
④反応液を吸引除去し、プレートを洗浄液で洗浄（400μL×3回）します。
⑤ジゴキシゲニン結合抗体液を200μLずつ各穴に分注します。
⑥22℃で1時間、二次反応を行います。
⑦反応液を吸引除去し、プレートを洗浄液で洗浄（400μL×3回）します。
⑧酵素標識抗体液を200μLずつ各穴に分注します。
⑨22℃で0.5時間、三次反応を行います。
⑩反応液を吸引除去し、プレートを洗浄液で洗浄（400μL×3回）します。
⑪調製した発色液200μLを各穴に分注します。
⑫遮光して18～25℃で0.5時間、発色反応を行います。
⑬発色停止液50μLを各穴に加え反応を停止させた後、よく混和します。
⑭反応停止後30分以内に、尿検体および標準液の波長492nmの吸光度を分光光度計にて測定します。
⑮尿検体の吸光度を標準液の測定から得られた検量線と対比させ尿検体中のNMP22濃度を求めます。

■測定結果の判定法

(1) 検量線は、グラフ用紙の横軸に各標準液の濃度を、縦軸に対応する吸光度（2重測定の平均値）をプロットして作成します。なお、標準液の濃度はロットにより異なることありますので、標準品のラベルに表示した値を用いてください。

(2) 検量線を用いて尿検体の吸光度に対する尿中NMP22濃度を読み取ります。

(3) カットオフ値は種々の要因から多少異なる可能性がありますので、各施設で設定されることを望みます。

(4) 本キットは尿路上皮癌の診断および膀胱癌の治療モニタリングに有用ですが、本キットの検査結果のみで診断せず、補助的診断として使用してください。

(5) 尿中NMP22値は経尿道的腫瘍切除術施行後、約1ヵ月程度は高値を示すことがありますので注意してください。

(6) 尿中NMP22値は膀胱全摘除術および尿路変向術を施行した患者では高値を示しますので使用しないでください。

(7) 尿中NMP22値は放射線性膀胱炎患者、間質性膀胱炎患者、出血性膀胱炎、急性膀胱炎患者では高値を示すことがありますので、治療後に測定してください。

(8) 尿中NMP値は腎不全患者では高値を示すことがあるので、注意してください。

(9) 尿中NMP22値は過激な運動の直後において高値を示すとの米国での臨床試験の報告がありますので注意してください。

(10) 尿中NMP22値は全身化学療法を受けている患者では高値を示すとの米国での臨床試験の報告がありますので注意してください。

(11) 尿中NMP22値はカテーテル等が留置されている患者では高値を示しますので使用しないでください。

(12) カテーテルにより尿の採取を行うと高値を示すことがありますので自然排出尿を用いてください。

(13) 膀胱鏡検査施行後、またはカテーテル施行後、5日以内に採尿すると高値を示すことがありますので注意してください。

(14) 溶血した検体では高値を示すことがありますので注意してください。

(15) 本キットは泌尿器科以外の領域については未検討ですので使用しないでください。

■臨床的意義

核マトリックスプロテイン22（NMP22）は、核マトリックス蛋白質（Nuclear Matrix Protein）を免疫原として作成された2種類のモノクローナル抗体302-22と302-18によって認識される核蛋白質であり[1]、また、核内のNuMA蛋白（Nuclear Mitotic Apparatus associated protein）が細胞死に伴い可溶化型となり、培養液中や体液中に分泌したものであると報告されています[2]。尿中NMP22は、尿路上皮癌で上昇することから、尿路上皮癌診断における有用性が示唆されています[3,4,5,6]。

「UNMP22 テストキット」は、NMP22に対する2種類のマウスモノクローナル抗体302-22と302-18を用いた、サンドイッチELISA法による尿中のNMP22を定量するためのキットであり、次のような特徴を有しています。

（1）尿中NMP22は、尿路上皮癌診断における膀胱鏡検査の対象者に行う検査として有用です。

（2）尿中NMP22は、性別や年齢の影響を受けません。

■臨床データ

（1）健常人のNMP22値とカットオフ値の設定[3)]

健常人171例、膀胱癌144例からROC曲線を作成し、ROC曲線の最区分点（有病正診率と［1-無病誤診率］の和が最大値をとるカットオフ値）である12U/mLを尿中NMP22のカットオフ値としました。カットオフ値12U/mLでの健常人の無病誤診率は9.9％であり（表2）、一方、尿中NMP22値に性差、年齢差は認められませんでした。

（2）膀胱癌患者における尿中NMP22値[3,4)]

尿中NMP22の中央値は、腫瘍径の増大、腫瘍数の増大、浸潤度の増大、および異型度の増大に伴い高値を示します。膀胱癌における尿中NMP22の有病正診率は61.1％であり（表2）、尿細胞診より高率を示します。

表2 各種疾患の有病正診率と尿中NMP22の中央値

疾患名	有病正診率	陽性数/例数	中央値（95％信頼区間）U/mL
膀胱癌	61.1%	88/144	17.8（13.1～29.0）
疾患名	無病誤診率	陽性数/例数	中央値（95％信頼区間）U/mL
健常人	9.9%	17/171	4.2（3.6～5.0）

（3）顕微鏡的血尿患者中の尿路上皮癌の診断

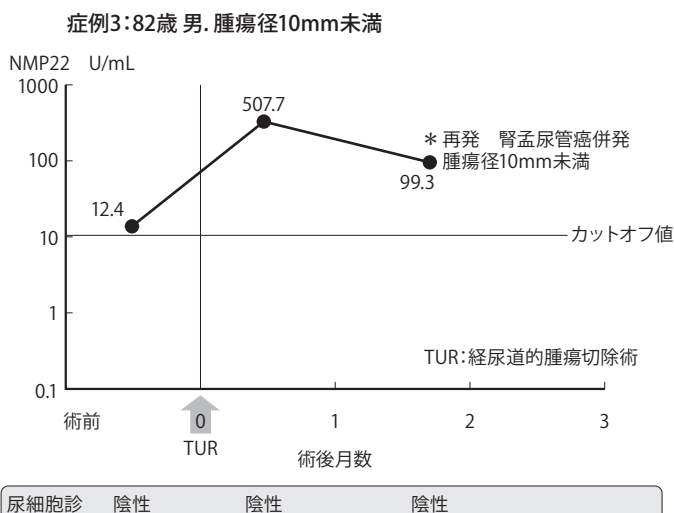
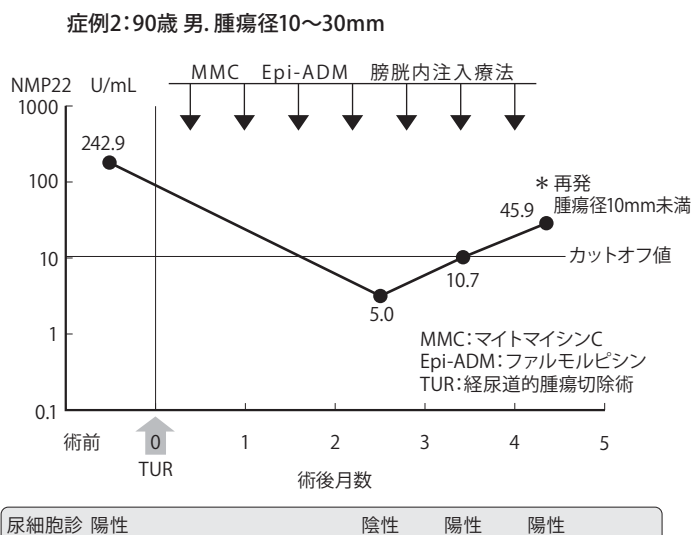
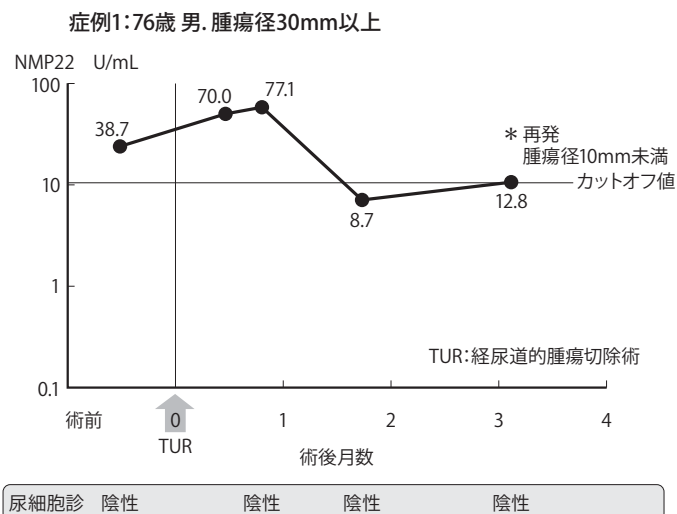
表3に、顕微鏡的血尿（183例）を対象としたプロスペクティブな検討で、診断が確定された尿路上皮癌およびその他の疾患の例数および有病正診率（無病誤診率）を示します。

表3 顕微鏡的血尿の内訳と有病正診率（無病誤診率）

疾患名	有病正診率	陽性数/例数
尿路上皮癌	85.7%	12/14
疾患名	無病誤診率	陽性数/例数
前立腺肥大	14.3%	3/21
尿路結石	37.5%	6/16
腎嚢胞	25.0%	2/8
膀胱炎	57.1%	4/7
膀胱瘤	50.0%	1/2
遊走腎	0.0%	0/2
その他の良性疾患	22.2%	2/9
顕微鏡的血尿のみ	17.3%	18/104

（4）膀胱癌の治療効果のモニタリングと再発の発見

図2に膀胱癌の治療モニタリングにおける尿中NMP22値の推移の代表的な3例を示します。

図2 膀胱癌の治療モニタリングにおける尿中NMP22値の推移

■性能

（1）感　　度：標準液1（NMP22値は0U/mL）および標準液5（NMP22値は100〜140U/mL）を測定するとき、1U/mL当たりの吸光度差は0.007〜0.019の範囲にあり、標準液1の吸光度は0.15以下にあります。

（2）正 確 性：異なる既知濃度の管理検体を測定するときに、低濃度管理検体（NMP22値は7〜12U/mL）の測定値は既知濃度の±30%以内にあり、中濃度管理検体（NMP22値は25〜35U/mL）および高濃度管理検体（NMP22値は50〜70U/mL）の測定値は既知濃度の±25%以内にあります。

（3）再 現 性：同一検体を4回同時に測定するとき、測定値のCV値は15%以下です。

（4）測定範囲：尿中NMP22濃度は無希釈で2〜120U/mLまで測定できます。なお、尿検体を希釈することにより、この濃度を超えた高値まで測定できます。

■使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上(危険防止)の注意

（1）検体はHIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。本キットの標準品はHBs抗原、HCV抗体、HIV抗体検査において陰性であることが確認されていますが、検体と同様に十分に注意して取り扱ってください。

（2）検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、またいかなる場合でも口によるピペッティングを行わないでください。

（3）発色剤（試薬6）およびその溶液、反応停止液は体質によってかぶれる等刺激がありますので十分に注意してください。

（4）試薬が誤って口や目に入った場合は水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

2. 使用上の注意

（1）本キット使用は添付文書に従って行ってください。

（2）本キットは関係者以外の手の届かないところに、2〜10℃で保存してください。

（3）使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。

（4）本試薬は用事調製を原則とします。

（5）本試薬はロットの異なる組み合わせで使用しないでください。また、同じロットであっても調整直後のものと保存したものとを合わせて使用することは避けてください。

※※（6）精製水を加えて溶解した標準液と希釈液は、2〜8℃で冷蔵保存する場合14日以内に、−20℃以下で凍結保存する場合予め小分けし30日以内に使用してください。2回以上の凍結融解は避けてください。

3. 廃棄上の注意

（1）未使用試薬および使用済み試薬は直接下水に流さず、産業廃棄物業者に委託するなど産業廃棄物として処理してください。

（2）尿検体、標準液およびこれらを含む廃液は、感染性医療廃棄物として廃棄してください。

（3）発色反応液、反応停止液およびこれらの混合液は、酸性ですのでアルカリ剤で中和処理した後に廃棄してください。

（4）標準品および希釈液凍乾品の使用済み試薬容器は、感染性医療廃棄物として廃棄してください。それら以外の試薬容器は、良く洗浄してから廃棄してください。

（5）本キット中の容器を他の目的に転用することは避けてください。

■貯蔵方法、有効期間

（1）貯蔵方法　2〜10℃（凍結を避けてください）

※（2）有効期間　18ヶ月（使用期限は外箱に記載）

■包装単位

1キット　96回分

■主要文献

（1）Miller T.E., Beausang L.A., Winchell L.F.,and Lidgard G.P.：Detection of Nuclear Matrix Proteins in Serum from Cancer Patients. Cancer Res., 52：422-7,1992.

（2）Keesee S.K., Briggman J.V., Thill G., and Wu Y.：Utilization of Nuclear Matrix Proteins for Cancer Diagnosis：Critical Review in Eukaryotic Gene Expression, 6：189-214（1996）

（3）赤座 英之、宮永 直人、塚本 泰司、石川 悟、野口 良輔、大谷 幹伸、河邊 香月、窪田 吉信、藤田 公生、小幡 浩司、平尾 佳彦、古武 敏彦、大森 弘之、熊澤 浄一、小磯 謙吉：尿路上皮癌における尿中NMP22（NuclearMatrix Protein22）の臨床的検討（第一報）―膀胱癌における尿中NMP22の感受性試験および経過観察での有用性―（癌と化学療法，24（7）：829-836, 1997）

（4）赤座 英之、宮永 直人、塚本 泰司、石川 悟、野口 良輔、大谷 幹伸、河邊 香月、窪田 吉信、藤田 公生、小幡 浩司、平尾 佳彦、古武 敏彦、大森 弘之、熊澤 浄一、小磯 謙吉：尿路上皮癌における尿中NMP22（Nuclear Matrix Protein 22）の臨床的検討（第二報）―顕微鏡的血尿を有する患者からの尿路上皮癌のスクリーニング―（癌と化学療法，24（7）：837-842, 1997）

（5）Miyanaga N., Akaza H., Ishikawa S., Ohtani M., Noguchi R., Kawai K., Koiso K., Kobayashi M., Koyama A., and Takahashi T.：Clinical evaluation of Nuclear Matrix Protein 22（NMP22）in urine as a novel marker for urothelial cancer. Eur Urol 31：163-168, 1997.

（6）Soloway M.S., Briggman J.V., Carpinito G.A. et al：Use of a new tumor marker, urinary NMP22 in the detection of occult or rapidly recurring transitional cell carcinoma of the urinary tract following surgical treatment. J Urol 156：363-367, 1996

※※
■問い合わせ先

アリーア メディカル株式会社
お客様相談室
〒160-0023　東京都新宿区西新宿1-24-1
フリーダイヤル　0120-1874-86
受付時間　9：00〜17：00
（土、日、祝日を除く）

※※
■製造販売業者の氏名又は名称及び住所

アリーア メディカル株式会社
〒270-2214　千葉県松戸市松飛台357
電話番号　047-311-5750